IN VIVO-UNTERSUCHUNGEN ZUR INTESTINALEN RESORPTION SAURER AMINOSÄUREN

Franz Hirl

Diss. München
1984

LIBRARY

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41534907_0008

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. E. Scharrer

IN VIVO-UNTERSUCHUNGEN ZUR INTESTINALEN RESORPTION SAURER AMINOSÄUREN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität München

von
FRANZ HIRL
aus
München

München 1983/84

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. E. Scharrer

Korreferent: Priv.Doz. Dr. Dr.habil. H. Nohl

Tag der Promotion: 24. Februar 1984

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

EINLEITUNG 1

LITERATUR

Allgemeines zur Aminosäurenresorption 2

Fütterungsbedingte Veränderungen der Aminosäurenresorption 3

Intestinale Resorption von L-Asparaginsäure und L-Glutaminsäure 5

Aminosäurentransport im Colon und Caecum 8

MATERIAL UND METHODEN

Tiermaterial und Haltungsbedingungen 10

Versuchsbedingungen und Versuchsdurchführung 10

Versuchsbedingungen mit Luftperfusion 18

Berechnung der Aminosäurenresorption im perfundierten Darmsegment 19

Papierchromatographische Bestimmung von Glutaminsäure 21

Bestimmung von Glutaminsäure 22

Statistik 23

ERGEBNISSE

Resorption von L-Glutaminsäure

Vorversuche

Konzentration von L-Glutaminsäure: 1mmol/l 24

Resorption von L-Phenylalanin und L-Glutaminsäure mit und ohne Luftperfusion 26

Hauptversuche

Resorption von L-Glutaminsäure bei HK-und HP-Ratten ohne vorhergehenden Futterentzug

L-Glutaminsäure-Konzentration des Perfusats: 0,2 mmol/l 28

L-Glutaminsäure-Konzentration des Perfusats: 0,1 mmol/l 29

Resorptionshemmversuche

Hemmung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Glutamin 31

Hemmung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Asparaginsäure 31

Hemmung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Leucin und L-Alanin 32

Resorption von L-Asparaginsäure

Resorption von L-Asparaginsäure aus dem proximalen, mittleren und distalen Jejunum bei HP- und HK-Ratten 36

Resorption von L-Asparaginsäure aus dem proximalen, mittleren und distalen Jejunum bei HK- und HF-Ratten 38

Resorption von L-Glutaminsäure bei HK- und HP-Ratten nach 12-stündigem Futterentzug 40

Versuche zur L-Asparaginsäure- und L-Glutaminsäure-Resorption am Caecum und Colon

Konzentration von L-Asparaginsäure: 0,2 mmol/l 42

Beeinflussung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Glutamin 42

Papierchromatographische Bestimmung von L-Glutaminsäure 45

Enzymatische Bestimmung von L-Glutaminsäure 45

DISKUSSION 47

ZUSAMMENFASSUNG 55

SUMMARY 57

SCHRIFTTUM 59

E I N L E I T U N G

Über die Resorption saurer Aminosäuren (L-Glutaminsäure, L-Asparaginsäure) ist wenig bekannt. Dies mag damit zusammenhängen, daß diese Aminosäuren im Darmepithel in starkem Umfang metabolisiert werden, und damit die Aussagefähigkeit von in vitro-Transportstudien am isolierten Darm im Falle dieser Aminosäuren eingeschränkt ist. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit in vivo-Versuche zur Resorption von sauren Aminosäuren an perfundierten Darmsegmenten von Ratten durchgeführt.

Dabei wurde geprüft, wie sich proteinreiche bzw. fettreiche im Vergleich zu kohlenhydratreicher Ernährung auf die Resorption der sauren Aminosäuren auswirkt. Weiter wurde der Einfluß von anderen Aminosäuren auf die intestinale Resorption saurer Aminosäuren untersucht. Darüber hinaus wurde auch noch die Resorption saurer Aminosäuren in verschiedenen Darmabschnitten untersucht.

L I T E R A T U R

ALLGEMEINES ZUR AMINOSÄURENRESORPTION

Die relative und absolute Länge der Darmzotten und Krypten ändert sich entlang des Darmes (Clark, 1975), und damit auch der funktionelle Status (Altmann und Leblond, 1970). So fanden Munck (1972) und Wilson (1962), daß die ausgereiften Zellen im oberen Teil der Darmzotten hauptsächlich verantwortlich sind für die Resorption der Aminosäuren aus dem Dünndarm.
In einer Untersuchung an Ratten (Reiser und Christiansen, 1965) und in einigen Studien am Dünndarm des Menschen (Schedl et al., 1978) wurden im cranialen Teil des Dünndarms die höchsten Aufnahmeraten für Aminosäuren gefunden. Im Gegensatz zu diesen Resultaten führte aber ein weitaus größerer Teil anderer Untersuchungen zu der Erkenntnis, daß der mittlere und caudale Bereich des Dünndarms für Aminosäuren die höhere Transportkapazität besitzt (Baker und George, 1971, Reiser und Christiansen, 1969).
Bei einer umfassenden Beschreibung des Transports von Aminosäuren durch das Darmepithel muß die Transportcharakteristik von zwei Membranen berücksichtigt werden, nämlich die der Bürstensaummembran und die der basolateralen Membran, sowie auch die Transportcharakteristik des parazellulären Weges (Schultz und Frizzel, 1975). Bei der Aufnahme der Amino-

säuren über die Bürstensaummembran in die Epithelzelle handelt es sich um einen durch Na^+ stimulierten aktiven Transportmechanismus (Curran et al., 1967, Schultz, 1977), wobei die L-Stereoisomere schneller transportiert werden als die D-Stereoisomere (Gibson und Wiseman, 1951). Der Austritt der Aminosäuren aus der Epithelzelle durch die basolaterale Membran hingegen scheint durch erleichterte Diffusion zu erfolgen (Murer und Hopfer, 1977). Es existieren für den Transport von Aminosäuren im Dünndarm für basische, saure und neutrale Aminosäuren, sowie auch für Iminosäuren getrennte Transportsysteme (Daniels et al., 1969, Wisemann, 1968, Munck und Schultz, 1969, Schultz et al., 1970).

FÜTTERUNGSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN DER AMINOSÄUREN-RESORPTION

Eine reduzierte Kalorienzufuhr führt zu einer Steigerung der Resorption einiger neutraler und basischer Aminosäuren. Auch die Metabolisierung von sauren Aminosäuren im Dünndarmepithel war bei unterernährten Tieren erhöht (Yasumoto und Mitarbeiter, 1977). Im Gegensatz dazu bemerkten Hanson und Parsons(1977) keine Auswirkungen auf die Glutaminutilisation des Dünndarmepithels von unterernährten Ratten. Schedl et al. (1979) stellten bei totalem Futterentzug, wie auch bei Unterernährung bei Goldhamstern eine Verringerung der L-Leucin-

Resorption fest. Eine Unterernährung, die bei Menschen zu Gewichtsverlust führte, zeigt zudem keinen Effekt auf die Aminosäurenresorption (Steiner et al., 1969).
Änderungen im Proteingehalt des Futters wirken sich ebenfalls auf das Resorptionsverhalten des Darmes aus. In einer Reihe von Untersuchungen wurde bei Ratten eine Stimulation des intestinalen Aminosäurentransportes bei Fütterung einer Diät mit hohem Proteingehalt (= HP-Diät) festgestellt (Scharrer, 1972, Scharrer und Zucker, 1967, Scharrer und Brüggemann, 1971, Schlotke und Scharrer, 1974). Scharrer et al. (1982) fanden nach Verfütterung einer HP-Diät an Ratten eine Zunahme der Transportkapazität und eine Abnahme der Substrataffinität der intestinalen Aminosäurentransportsysteme der Bürstensaummembran für neutrale und basische Aminosäuren. Wolffram (1983) zeigte an Bürstensaummembranvesikeln von Ratten, daß eine HP-Diät bei Ratten im Vergleich zu einer kohlenhydratreichen Diät (=HK-Diät) eine höhere L-Leucin Aufnahme sowohl bei Anwesenheit eines transmembranären Na^+-Gradienten wie auch unter Na^+-Gleichgewichtsbedingungen induzierte.
Sind die Befunde bei Fütterung einer HP-Diät recht einheitlich, so gibt es hinsichtlich des Einflusses einer proteinarmen Diät auf den intestinalen Aminosäurentransport gegensätzliche Ergebnisse. Lis et al. (1972) stellten bei Verfütterung einer proteinarmen Diät an der Ratte eine Verringerung der intestinalen Resorption von Aminosäuren fest. Zu gleichen Ergebnissen führte ein vierzehntägiger

Proteinentzug beim Menschen (Adibi und Allen, 1970). Ziemlansky et al. (1970) ermittelten jedoch bei der Ratte nach Proteinentzug eine beschleunigte Resorption von Aminosäuren. Fettreiche Ernährung induzierte bei Ratten, verglichen mit einer kohlenhydratreichen Ernährung, eine Depression der intestinalen L-Leucin-Resorption (Scharrer und Kelch, 1974). Eine Mangelernährung an essentiellen Fettsäuren führte bei Ratten zu einer geringeren Resorption von L-Phenylalanin und L-Leucin aus dem Dünndarm, bei L-Glutaminsäure und L-Lysin war dieser Effekt jedoch nicht feststellbar (Ahmed und Walker, 1972).

INTESTINALE RESORPTION VON L-ASPARAGINSÄURE UND L-GLUTAMINSÄURE

Eine schnelle Metabolisierung durch Transaminierung der Glutaminsäure und Asparaginsäure verhinderte bis vor kurzem eine erfolgreiche Untersuchung des intestinalen Transports der sauren Aminosäuren L-Asparaginsäure und L-Glutaminsäure. Wiseman (1953) bemerkte in einer Studie an umgestülpten Dünndarmsäckchen von Ratten, daß diese Aminosäuren nicht gegen einen Konzentrationsgradienten von der mucösen zur serösen Seite transportiert werden. Obwohl diese Aminosäuren aus dem mucösen wie dem serösen Medium aufgenommen wurden, konnten

sie nicht wieder aus dem Darmgewebe zurückgewonnen werden. Matthews und Wiseman (1953) kamen dann zu dem Ergebnis, daß saure Aminosäuren im Darmepithel schnell metabolisiert werden.
Bei Versuchen am Ileum von Kaninchen, wobei der unidirektionale Influx über die Bürstensaummembran in das Epithel gemessen wurde (dabei werden die Resultate nicht von der Metabolisierung beeinflußt), fanden Schultz et al. (1970), daß der intestinale Glutamin- und Asparaginsäuretransport ein saturabler, Na^+-abhängiger Prozess ist, und daß sich L-Asparaginsäure und L-Glutaminsäure bei der Aufnahme in das Darmepithel wechselseitig hemmen.
Lerner und Steinke (1977) fanden bei ihren Untersuchungen am Dünndarm von Kücken für die L-Glutaminsäure zwei Transportwege,

a) einen aktiven Transport mit hoher Substrataffinität und geringer Transportkapazität
b) eine einfache Diffusion.

Außerdem konnten sie feststellen, daß L-Glutaminsäure sich kaum auf die Resorption von neutralen und basischen Aminosäuren auswirkt. Dies steht in Übereinstimmung mit Untersuchungen von Finch und Hird (1960) und Preston et al. (1974). Bei Anwesenheit eines transmembranären Na^+-Gradienten konnten Wolffram (1983) und Corcelli et al. (1982) an intestinalen Bürstensaummembranvesikeln eine deutliche Stimulation der L-Glutaminsäureaufnahme in die Vesikel im Vergleich zu Na^+-Gleichgewichts-

bedingungen nachweisen.
Sowohl bei in vivo- (Neame und Wiseman, 1957) wie auch bei in vitro-Versuchen (Parsons und Volman-Mitchell, 1974) wurde nachgewiesen, daß L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure im Dünndarm transaminiert werden, was sich in einer hohen Erscheinungsrate von Alanin entweder im venösen Mesenterialblut (in vivo), oder auf der Serosaseite des Darms (in vitro) zeigt. Es besteht auch eine Beziehung zwischen dem Ausmaß der Transaminierung saurer Aminosäuren und der im Darmepithel gefundenen Aktivität der Enzyme Glutamat-Pyruvat-Transaminase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, die für die Transaminierung zu Alanin verantwortlich sind (Parsons und Volman-Mitchell, 1974).
Windmueller und Späth (1974, 1977, 1981) hoben die große Bedeutung von Glutamin, Glutaminsäure und Asparaginsäure für die Energiebereitstellung in den Dünndarmzellen hervor. So wurde auch von Pinkus und Windmueller (1977) eine hochaktive phosphatabhängige Glutaminase in den Dünndarmzellen von Ratten, Hunden, Katzen und Hamstern gefunden.
Weber und Mitarbeiter (1981) beschrieben eine Abnahme der Glutaminsäure-Freisetzung aus dem Darm in das venöse Blut des Mesenteriums durch Glucagon im Ileum. Bei den anderen Aminosäuren war dies nicht der Fall.

AMINOSÄURENTRANSPORT IM COLON UND CAECUM

Im allgemeinen ist das Colonepithel nicht an der Aminosäurenresorption beteiligt (Binder, 1970, Cordero und Wilson, 1961). Von James et al. (1976) wurde jedoch ein Na^+-abhängiger Transport von L-Methionin im Colon von neugeborenen Ferkeln beobachtet, der jedoch nach wenigen Tagen wieder verschwand. Im Colon von Hühnern wurde eine Resorption von L-Methionin beobachtet, welche hinsichtlich der kinetischen Konstanten (V_{max} und K_m) ähnlich der Methionin-Resorption durch das Dünndarmepithel ist (Lerner et al., 1975).

Auch die Fähigkeit des Caecums, Aminosäuren zu resorbieren, scheint nicht sehr groß zu sein. So war es Mortensen und Tindall (1981) bei ihren Untersuchungen am Caecum des Lagopus Lagopus nicht möglich, irgendeine Resorption von Aminosäuren festzustellen. Auch Just et al. (1981) konnten kaum eine Aminosäurenresorption im Caecum von Schweinen entdecken. Bei einer Infusion von L-Alanin in das Caecum von Kaninchen wurde zwar ein beträchtlicher Konzentrationsabfall dieser Aminosäure im Caecuminhalt festgestellt, aber nur eine geringe Wiederfindungsrate im Mesenterialblut (Hoover und Heitmann, 1975). Offensichtlich erfolgt ein Abbau der infundierten Aminosäuren zu Ammoniak, der dann resorbiert wird (Krawielitzki et al., 1982, Hoover und Heitmann, 1975). Bei Eintagsküken fanden Lerner und Mitarbeiter (1975) am

Caecum einen intestinalen Transport von L-Methionin. Am Ende der ersten Lebenswoche jedoch besaß das Caecum nicht mehr die Möglichkeit, L-Methionin oder L-Alanin mittels eines Carrier-Mechanismus zu transportieren.

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

TIERMATERIAL UND HALTUNGSBEDINGUNGEN

Alle Versuche wurden mit männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Institut für wissenschaftliche Versuchstierzucht GmbH, Gelting bei München) durchgeführt. Die Aufstallung erfolgte paarweise in durchsichtigen Kunststoffkäfigen. Das Einstallungsgewicht betrug etwa 250 g.
Gefüttert wurde eine kohlenhydratreiche (HK-Diät), eine proteinreiche (HP-Diät) und eine fettreiche Diät (HF-Diät). Die Zusammensetzung der Diäten ist aus den Tabellen 1-5 ersichtlich. Die Diäten waren isokalorisch. Futter und Wasser standen stets zur Verfügung. Die Experimente wurden nach mindestens 2-wöchiger Verfütterung der Diäten durchgeführt. Die Endgewichte der Tiere werden bei den Ergebnissen angegeben.

VERSUCHSBEDINGUNGEN UND VERSUCHSDURCHFÜHRUNG

Zur Durchführung der Versuche zur Resorption von ^{3}H-markierter L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure[1)] wurden die Ratten mit Äther betäubt und anschließend durch eine Injektion von Rompun^{R} [2)] und Ketavet^{R} [3)] (1:1) narkotisiert (Dosierung: 46 mg Xylazinhydrochlorid plus 200 mg Ketaminhydrochlorid/100 g Körpergewicht).

---

1) New England Nuclear Chemicals GmbH, Dreieich
2) Bayer, Leverkusen
3) Parke Davis & Co., München

Tabelle 1: Zusammensetzung der HP-Diät

Kasein[1)]	88,0 %
Maisstärke	3,0 %
Sojaöl	2,0 %
Mineralsalzmischung (s. Tabelle 4)	5,0 %
Vitaminmischung (s. Tabelle 5)	2,0 %
	100,0 %

Tabelle 2: Zusammensetzung der HK-Diät

Kasein[1)]	13,0 %
Maisstärke	76,7 %
Sojaöl	3,3 %
Mineralsalzmischung (s. Tabelle 4)	5,0 %
Vitaminmischung (s. Tabelle 5)	2,0 %
	100,0 %

[1)] Säurekasein, Firma Meggle GmbH, Reitmehring
88,3 % Rohprotein, mit 1 % DL-Methionin ergänzt

Tabelle 3: Zusammensetzung der HF-Diät

Kasein[1)]	13,00 %
Mineralsalzmischung (s. Tabelle 4)	5,00 %
Vitaminmischung (s. Tabelle 5)	2,00 %
Hostalen[2)]	40,00 %
Sojaöl	3,54 %
Rindertalg	23,54 %
Schweineschmalz	12,92 %
	100,00 %

[1)] Säurekasein mit 1 % DL-Methionin ergänzt
[2)] Polyäthylenpulver

Tabelle 4: Zusammensetzung der in Tabelle 1, 2 und 3 erwähnten Mineralsalzmischung

$CaCO_3$	12,50 g
$Ca_3(PO_4)_2$	11,70 g
K_2HPO_4	8,35 g
NaCl	6,25 g
Na_2HPO_4	5,80 g
$MgSO_4 \times 7\ H_2O$	4,16 g
Fe-Citrat	0,37 g
$MnSO_4 \times 5\ H_2O$	0,38 g
$ZnCO_3$	0,066 g
$CuSO_4 \times 5\ H_2O$	0,016 g
KJ	0,033 g
NaF	0,008 g
	50,00 g

Tabelle 5: Zusammensetzung der in Tabelle 1, 2 und 3 erwähnten Vitaminmischung

Vitamin A	5000	IE
D_3	1000	IE
E	100	mg
K_3	2	mg
C	20	mg
B_1 x HCL	20	mg
B_2	20	mg
B_6 x HCL	10	mg
B_{12}	30	µg
Biotin	200	µg
Folsäure	2	mg
Nikotinsäure	50	mg
Ca-Panthotenat	50	mg
Cholinchlorid	2	g
Inosit	250	mg
p-Aminobenzoesäure	100	mg
Maisstärke ad	20	g

Die Injektion erfolgte intramuskulär in die Oberschenkelmuskulatur.

Nach dem Eintritt der Narkose wurde die Bauchhöhle im Bereich der Linea alba durch einen 3 - 4 cm langen Schnitt eröffnet.
Perfundiert wurden das proximale, mittlere und distale Jejunum (Länge der Darmsegmente: ca. 20 cm). Außerdem wurden in einigen Versuchen auch noch das Caecum und das Colon perfundiert.
Zum Auffinden des proximalen Jejunums orientierte ich mich an der Plica duodenocolica. Das Ende der Plica duodenocolica stellt den Beginn des Jejunums dar. Die Plica ileocaecalis bestimmt das Ende des distalen Jejunums, so daß zur Perfusion des distalen Jejunums das Darmsegment cranial davon Verwendung fand. Für das mittlere Jejunum wurde der Darmabschnitt verwendet, der cranial 35 cm distal von der Plica duodenocolica beginnt und caudal 35 cm vor der Plica ileocaecalis endet.

Das zu perfundierende Darmsegment wurde cranial und caudal mit chirurgischer Nähseide abgebunden und ca. 0,5 cm entfernt von den abgebundenen Stellen eröffnet. Das Darmsegment wurde jetzt gründlich mit auf 37°C vorgewärmten Krebs-Henseleit-Puffer (Zusammensetzung in Tabelle 6) durchgespült. Mit einer 20 ml Spritze wurde der Puffer mittels einer Knopfkanüle in die craniale Öffnung eingespritzt und durch die caudale Öffnung abgelassen.

Tabelle 6: Zusammensetzung des Krebs-Henseleit-Bikarbonat-Puffers

NaCl	118,5 mmol/l
KCl	4,7 mmol/l
$CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$	2,5 mmol/l
KH_2PO_4	1,2 mmol/l
$MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$	1,2 mmol/l
$NaHCO_3$	24,8 mmol/l

Der Puffer wurde 20 Minuten mit Carbogen (O_2/CO_2 = 95 : 5) begast und auf pH 7,4 eingestellt.

In die craniale Öffnung des zu perfundierenden Darmabschnittes wurde nun ein Siliconschlauch mit einem Außendurchmesser von 4 mm und einem Innendurchmesser von 2 mm etwa 1 cm weit eingeführt und mit chirurgischer Nähseide festgebunden. Dieser Schlauch stellte die Verbindung zu einer 50 ml-Spritze her, die mit der Versuchslösung (Krebs-Henseleit-Puffer + L-Gutaminsäure bzw. L-Asparaginsäure + Polyäthylenglykol) auf einer Perfusionspumpe[1] befestigt war. In 100 ml Versuchslösung waren 2,5 µCi ^{3}H-markierte L-Glutaminsäure bzw. L-Asparaginsäure und 2,5 µCi ^{14}C-markiertes Polyäthylenglykol[2] enthalten. Zur Erwärmung der Versuchslösung wurde der Schlauch in ein auf 37°C vorgewärmtes Wasserbad gelegt. In der caudalen Darmöffnung wurde ein gleichartiger 20 cm langer Schlauch festgebunden, mit dem die perfundierte Probelösung abgeführt und in einem Meßzylinder aufgefangen werden konnte. Jetzt wurde die eröffnete Bauchhöhle zugeklammert.
Um ein Abkühlen der narkotisierten Ratten zu vermeiden, wurden diese auf einen thermostatisierten Operationstisch gelegt.
Anschließend wurde die Perfusionspumpe eingeschaltet. Diese war auf eine Perfusionsrate von 11 ml/30 min eingestellt. In den Vorversuchen wurde das Perfusat über 90 min alle 15 min in einem 10 ml Meßzylinder aufgefangen, während in den Hauptversuchen nach einer Vorlaufzeit von 30 min die Probelösung wiederum für 30 min ebenfalls in einem 10 ml Meßzylinder gesammelt wurde.

---

[1] Modell Nr. 975, Harvard Apparatus Co. Inc. Dover Mass.

[2] Amersham Buchler, Braunschweig

Nach Ende der Perfusion wurde das perfundierte Darmsegment abgesetzt und vom Gekröse befreit. Anschließend wurde die Länge und das Naßgewicht des herausgenommenen Darmabschnitts bestimmt. Um das Trockengewicht zu erhalten, wurde das Darmsegment für 48 h in einen Trockenschrank verbracht.

Von der aufgefangenen Probelösung und der Versuchslösung pipettierte ich jeweils 200 µl in ein mit gebleichtem Zellstoff aufgefülltes Papierhütchen. Diese Papierhütchen wurden in einem Sample Oxidizer verbrannt. Bei dem Verbrennungsvorgang wurden die radioaktiven Isotope ^{3}H und ^{14}C aufgetrennt, und in 2 Szintillationsfläschchen übergeführt, die mit Szintillationsflüssigkeit aufgefüllt wurden. Nach einer angemessenen Abkühlung (4 - 5 h) wurde die ^{3}H und ^{14}C-Aktivität in einem Flüssigkeitsszintillationszähler gemessen.

VERSUCHSBEDINGUNGEN MIT LUFTPERFUSION

Da die Resorption von L-Phenylalanin bei gleichzeitiger Perfusion von Luft und Versuchslösung gegenüber alleiniger Perfusion des Darms mit Versuchslösung aufgrund einer Reduzierung der dem Epithel aufliegenden "unstirred layer" bis 50 % erhöht wird (Winne et al., 1979), wurde der Einfluß der gleichzeitigen Luftperfusion auch im Hinblick auf die Resorption von L-Glutaminsäure untersucht. Dazu wurden durch luftdichte Spritzen gleichzeitig mit der Versuchslösung 11 ml/30 min Luft perfun-

diert. Kurz vor der Einmündungsstelle in den Darm wurde der die Versuchslösung führende Schlauch mit einer dünnen Kanüle angestochen. Über einen weiteren Schlauch war die Kanüle mit den luftdichten Spritzen verbunden, die ebenfalls auf einer Perfusionspumpe[1)] angebracht waren.

BERECHNUNG DER AMINOSÄURENRESORPTION IM PERFUNDIERTEN DARMSEGMENT

Zur Ermittlung der Resorption von L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure im perfundierten Darmsegment diente die ^{3}H-Aktivität der Proben, die im Flüssigszintillationszähler gemessen wurde. Der erste Schritt bestand in der Berechnung der Mittelwerte aus den für jeden Darmabschnitt ermittelten Doppelwerten und deren Korrektur durch die Subtraktion des Nullwertes. Die ^{3}H-Aktivität der Versuchslösung und der Proben entsprechen der Aminosäurenkonzentration in der Versuchslösung und in den Proben. Daraus ergibt sich für die Konzentration (mmol/l) der Proben folgende Formel:

$$\frac{^{3}H\text{-Aktivität}_{Probe} \times \text{Konzentration der Versuchslösung (mmol/l)}}{^{3}H\text{-Aktivität}_{Versuchslösung}} = \text{Konzentration der betreffenden Aminosäure (mmol/l) der Probe}$$

1) Type 871162, B. Braun Melsungen AG

Da die Resorption von Wasser bei der Berechnung der Aminosäurenresorption berücksichtigt werden muß, wurde der Versuchslösung 0,01 mmol/l nicht resorbierbares ^{14}C-markiertes Polyäthylenglykol zugegeben. Man erhält über die Formel:

$$\frac{^{14}C\text{-Aktivität der Versuchslösung}}{^{14}C\text{-Aktivität der Probe}} = \text{Faktor}$$

einen Faktor, der in die Berechnung der Resorption von sauren Aminosäuren durch das jeweilige perfundierte Darmsegment (siehe nächste Formel) eingeht, indem man die Konzentration der Probe mit diesem Faktor multipliziert.
Die Aminosäurenresorption (µmol/Darmsegment) des gesamten perfundierten Darmsegments ergibt sich dann aus folgender Formel:

$$(\text{Konz.}_{\text{Versuchslsg.}}{}^{1)} - \text{Konz.}_{\text{Pr.}}{}^{2)} \times f^{3)}) \times \text{Perfusionsrate} =$$

= Aminosäurenresorption (µmol)/Darmsegment

Die Perfusionsrate gibt das Volumen der Versuchslösung (11 ml/30 min) an, die mittels der Perfusionspumpe über die Spritze in den Darm überführt wird.
Um vergleichbare Werte für die Aminosäurenresorption zu erhalten, wird die Aminosäurenresorption auf 100 mg Darmtrockengewicht (DTG) bezogen, was durch folgende Formel erreicht wird:

---

1) Aminosäuren-Konzentration der Versuchslösung (µmol/ml)
2) Aminosäuren-Konzentration der Probe (µmol/ml)
3) f = Faktor: Definition siehe oben

$$\frac{\text{Resorption (µmol)/ perfundiertes Darmsegment} \cdot 100 \text{ mg}}{\text{Darmtrockengewicht (mg)}} =$$

resorbierte Aminosäurenmenge (µmol/100 mg DTG/30 min)

PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG VON GLUTAMINSÄURE

Zur Überprüfung, ob die ^{3}H-Aktivität der Glutaminsäure tatsächlich auch während der Perfusion an Glutaminsäure gebunden bleibt, wurde die Glutaminsäure der Versuchslösung und das Perfusat papierchromatographisch getrennt und anschließend die ^{3}H-Aktivität gemessen. Als Fließmittel wurde ein Gemisch aus n-Butanol, Wasser und Essigsäure im Verhältnis 12:5:3 verwendet. Es wurde die absteigende Chromatographie gewählt. Das Chromatogramm blieb 4 h in der Trennkammer. Nach dem Trocknen des Chromatogramms wurde dieses mit der Auftragstelle beginnend in 1 cm breite Streifen geschnitten. Die Streifen und 10 ml Szintillationsflüssigkeit wurden jeweils in ein Szintillationsfläschchen gebracht und nach kräftigem Schütteln 10 min in einem Flüssigkeitszintillationszähler gemessen, so daß geprüft werden konnte, an welcher Stelle des Chromatogramms die ^{3}H-Aktivität erscheint.

BESTIMMUNG VON L-GLUTAMINSÄURE

Der Farbtest zur Bestimmung von L-Glutaminsäure (Boehringer Mannheim) diente zur Klärung der Frage, inwieweit die Berechnung der Glutaminsäurekonzentration der Probe auf Grund der ^{3}H-Aktivität identisch ist mit der tatsächlichen Glutaminsäurekonzentration. Das Testprinzip beruht auf einer oxidativen Desaminierung von L-Glutaminsäure in Anwesenheit von NAD durch das Enzym Glutamat-Dehydrogenase (GDH) zu α-Ketoglutarat. Das entstehende NADH setzt Jodnitrotetrazoliumchlorid (INT) in Gegenwart von Diaphorase zu einem Formazan um, welches im sichtbaren Bereich bei 492 nm gemessen wird. Die Berechnung für die Bestimmung der Konzentration unter Bezug auf einen Standard wurde nach folgender Formel vorgenommen:

$$\frac{\Delta E_{Probe}}{\Delta E_{Standard}} \cdot \text{Konzentration Standard} = \text{mmol/l L-Glutaminsäure}$$

STATISTIK

In den Tabellen sind die Ergebnisse jeweils in Form der Mittelwerte mit den Standardfehlern des Mittelwerts dargestellt. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen wurden mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests auf ihre Signifikanz geprüft, wobei immer die zweiseitige Fragestellung zugrunde gelegt wurde (signifikant: $p < 0,05$).

E R G E B N I S S E

RESORPTION VON L-GLUTAMINSÄURE

1. VORVERSUCHE

a) Konzentration von L-Glutaminsäure : 1 mmol/l

Bei einer L-Glutaminsäure-Konzentration von 1 mmol/l wurde über eine Zeit von 90 min ein etwa 20 cm langes Darmsegment des mittleren Jejunums perfundiert. Die Probelösung wurde während mehrerer aufeinanderfolgender 15 min-Perioden aufgefangen, um anschließend die Resorption von L-Glutaminsäure zu bestimmen. Dabei zeigte sich, daß die Resorption von L-Glutaminsäure sowohl bei einer Ernährung mit proteinreicher Diät (Gruppe HP), wie auch bei einer Ernährung mit kohlenhydratreicher Diät (Gruppe HK) zwischen der dreißigsten und sechzigsten Minute am höchsten war. Die L-Glutaminsäure-Resorption war in diesem Zeitraum bei der Gruppe HP zwar höher als bei der Gruppe HK, ein signifikanter Unterschied ergab sich jedoch nicht.
Abbildung 1 stellt diesen Sachverhalt graphisch dar.

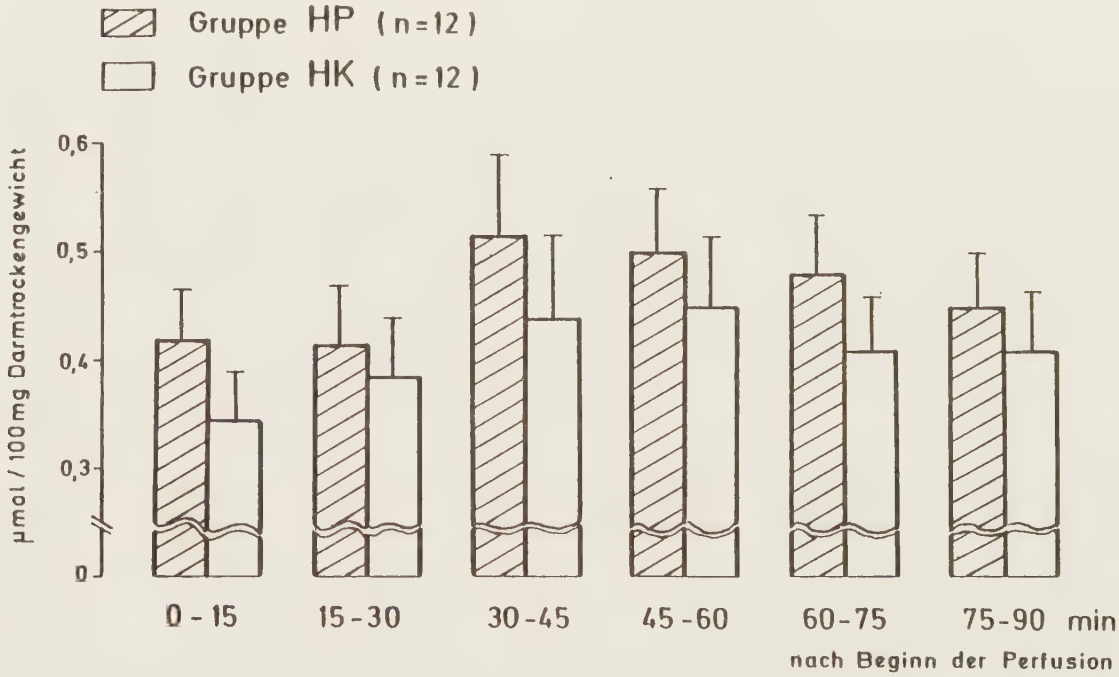

Abb. 1 Resorption von L-Glutaminsäure im mittleren Jejunum bei HP- und HK-Ratten in Abhängigkeit von der Zeit.
Konzentration von L-Glutaminsäure im Perfusat: 1 mmol/l

b) Resorption von L-Phenylalanin und L-Glutaminsäure mit und ohne Luftperfusion

(L-Glutaminsäure- bzw. L-Phenylalanin-Konzentration im Perfusat : 0,1 mmol/l)

Bei gleichzeitiger Perfusion des Jejunums mit Luft- und L-Phenylalanin-haltiger Lösung erscheint im venösen Blut des Jejunums von Ratten ca. 50 % mehr L-Phenylalanin als bei alleiniger Perfusion von L-Phenylalanin (Winne et al., 1979).
Daraus folgerte Winne et al., daß die "unstirred layer", die aufgrund der laminaren Strömung im Darmlumen entsteht und durch die Luftperfusion verkleinert wird, zu einer Verringerung der Resorption führt.
Bei eigenen Versuchen konnte für L-Phenylalanin auch eine signifikant erhöhte Resorptionsrate bei gleichzeitiger Luftperfusion festgestellt werden, hingegen schien sich die "unstirred layer" nicht auf die Resorptionsrate von L-Glutaminsäure auszuwirken (siehe Tab. 7). Die Resorptionsrate von L-Glutaminsäure bei gleichzeitiger Luftperfusion unterschied sich nämlich nicht von der ohne Luftperfusion. Damit dürfte die "unstirred layer", die eine dem Darmepithel aufliegende Flüssigkeitsschicht darstellt, die Resorption saurer Aminosäuren nicht limitieren. Verantwortlich dafür könnte der relativ niedrige pH-Wert der"unstirred layer"sein (Lucas et al., 1980), der die Passage von sauren Aminosäuren durch die unstirred layer begünstigen könnte. In den Hauptversuchen wurde daher auf die Luftperfusion verzichtet.

Tabelle 7: Beeinflussung der Resorption von L-Phenylalanin und L-Glutaminsäure durch gleichzeitige Luftperfusion
Fütterung: Altromin; perfundiertes Darmsegment: mittleres Jejunum

	Konzentration von L-Phenylalanin in der Versuchslösung : 0,1 mmol/l		Konzentration von L-Glutaminsäure in der Versuchslösung : 0,1 mmol	
	mit Luftperfusion	ohne Luftperfusion	mit Luftperfusion	ohne Luftperfusion
Anzahl der Versuche	12	12	12	12
Rattengewichte in g	322 ± 6	331 ± 5	355 ± 5	350 ± 4
perfundiertes Darmsegment in cm	17 ± 1,2	16 ± 1,0	17 ± 0,5	18 ± 0,5
Darmtrockengewicht in mg	303 ± 20	283 ± 20	320 ± 20	341 ± 20
Faktor[1)]	0,88 ± 0,01	0,92 ± 0,01	0,90 ± 0,01	0,91 ± 0,005
Konzentration in mmol/l [2)]	0,055 ± 0,002	0,067 ± 0,001	0,064 ± 0,002	0,053 ± 0,002
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,59 ± 0,02	0,43 ± 0,02	0,48 ± 0,03	0,59 ± 0,02
Resorption in µmol/ 100 mg Darmtrockengewicht	0,190 ± 0,012	0,122 ± 0,002	0,151 ± 0,013	0,173 ± 0,008
	$p<0,02$			

1) Definition: siehe Seite 20 in Abschnitt "Material und Methoden"

2) Konzentration der Versuchslösung nach der Perfusion

2. HAUPTVERSUCHE

RESORPTION VON L-GLUTAMINSÄURE BEI HK- UND HP-RATTEN OHNE VORHERGEHENDEN FUTTERENTZUG

a) L-Glutaminsäure-Konzentration des Perfusats:
0,2 mmol/l

Auf Grund der Ergebnisse der Vorversuche wurde bei diesem und den darauf folgenden Versuchen nach einer Vorlaufzeit von 30 Minuten die Probelösung zwischen der dreißigsten und sechzigsten Minute aufgefangen und die Resorption von L-Glutaminsäure aus dem mittleren Jejunum in diesem Zeitabschnitt bestimmt.
Dabei zeigte sich, daß es zu einer geringfügigen Mehraufnahme von L-Glutaminsäure bei einer Ernährung mit der proteinreichen Diät (=HP-Diät), gegenüber einer Ernährung mit der kohlenhydratreichen Diät (=HK-Diät) kommt (Tab. 8). Die erhaltenen Werte, die sich auf 100mg Darmtrockengewicht beziehen, waren jedoch nicht signifikant verschieden. Der PEG-Faktor, der ein Maß für die Wasserresorption darstellt, wie auch die Konzentration von L-Glutaminsäure in der Probelösung und die Resorption von L-Glutaminsäure im gesamten perfundierten Darmabschnitt waren zwischen der Gruppe HP und HK nicht verschieden.

b) L-Glutaminsäure-Konzentration des Perfusats:
0,1 mmol/l

Bei Bestehen dieser Konzentration ist ebenso wie bei der Konzentration von 0,2 mmol/l L-Glutaminsäure eine leicht erhöhte Resorption bei Gruppe HP gegenüber Gruppe HK festzustellen, wenn man die Resorption auf 100 mg Darmtrockengewicht bezieht. Die erhaltenen Werte waren jedoch ebenfalls nicht signifikant verschieden.
(siehe Tabelle 8)

Tabelle 8: Resorption von L-Glutaminsäure bei HP- und HK-Ratten ohne vorhergehenden Futterentzug
Konzentration von L-Glutaminsäure : 0,2 bzw. 0,1 mmol/l; Resorptionsort: mittleres Jejunum

	Konzentration : 0,2 mmol/l		Konzentration : 0,1 mmol/l	
Gruppe	HP	HK	HP	HK
Anzahl der Versuche	25	24	12	12
Rattengewichte in g	363 ± 9	378 ± 8	279 ± 4	295 ± 6
perfundiertes Darmsegment in cm	26 ± 0,7	26 ± 0,8	26 ± 0,6	27 ± 0,1
Darmtrockengewicht in mg	411 ± 20	469 ± 20	350 ± 20	400 ± 20
Faktor	0,872 ± 0,010	0,852 ± 0,004	0,938 ± 0,010	0,870 ± 0,004
Konzentration in mmol/l	0,103 ± 0,004	0,107 ± 0,004	0,030 ± 0,002	0,031 ± 0,004
Resorption in µmol pro Darmsegment	1,22 ± 0,05	1,21 ± 0,06	0,78 ± 0,03	0,82 ± 0,04
Resorption in µmol/100 mg Darmtrockengewicht	0,295 ± 0,015	0,258 ± 0,017	0,223 ± 0,014	0,205 ± 0,013

RESORPTIONSHEMMVERSUCHE

1. Hemmung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Glutamin

Durch Verwendung einer Versuchslösung, die 0,2 mmol/l L-Glutaminsäure + 5 mmol/l L-Glutamin, bzw. 0,2 mmol/l L-Glutaminsäure + 5 mmol/l Mannit enthielt, wurde untersucht, inwieweit L-Glutamin einen Einfluß auf die Resorption von L-Glutaminsäure hat. Als Kontrollen dienten die Versuche, bei denen Mannit der Versuchslösung zur Aufrechterhaltung gleicher osmotischer Verhältnisse beigegeben wurde. Es konnte festgestellt werden, daß die Resorption von L-Glutaminsäure bei Vorhandensein von Mannit signifikant höher war, als bei Vorhandensein von L-Glutamin (Tab. 9). Dies war sowohl bei der Gruppe HP, wie auch bei der Gruppe HK festzustellen. L-Glutamin scheint damit die Resorption von L-Glutaminsäure zu hemmen. Es fiel ferner auf, daß in den Kontrollversuchen die Glutaminsäureresorption bei Gruppe HP geringer war als bei Gruppe HK (siehe Tab. 9). Die in Tab. 8 dargestellten Ergebnisse konnten damit nicht reproduziert werden.

2. Hemmung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Asparaginsäure

Die Untersuchung, ob L-Asparaginsäure (Konzentration in der Versuchslösung 5 mmol/l) die Resorption der L-Glutaminsäure (Konzentration 0,2 mmol/l) hemmt,

wurde am mittleren Jejunum von mit Altromin gefütterten Ratten vorgenommen. Wiederum wurden die erhaltenen Werte mit den Ergebnissen verglichen, die in jeweiligen Parallelversuchen bei Anwesenheit von 5 mmol/l Mannit anstelle von 5 mmol/l L-Asparaginsäure in der Versuchslösung erhalten wurden. Durch L-Asparaginsäure wurde die Resorption von L-Glutaminsäure signifikant erniedrigt (Tab. 10). Auffällig war zudem, daß die Resorptionsrate für L-Glutaminsäure bei Fütterung mit einer handelsüblichen Rattendiät (Altromin) geringer war als bei Fütterung mit den Experimentaldiäten.

3. Hemmung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Leucin und L-Alanin

Der Einfluß der neutralen Aminosäuren L-Leucin (Konzentration im Perfusat: 5 mmol/l) und L-Alanin (Konzentration im Perfusat: 5 mmol/l) auf die Resorption von L-Glutaminsäure im mittleren Jejunum bei mit Altromin gefütterten Ratten sollte bei diesem Versuch untersucht werden. Die gefundenen Werte wurden wieder in Bezug gesetzt zu den Ergebnissen von Kontrollversuchen, bei denen anstelle der neutralen Aminosäuren Mannit zur Aufrechterhaltung gleicher osmotischer Verhältnisse in der Versuchslösung enthalten war.
Man konnte feststellen, daß die Resorption von L-Glutaminsäure bei Anwesenheit von L-Leucin signifikant geringer war gegenüber der Anwesenheit von Mannit. L-Alanin dagegen hemmte die L-Glutaminsäure-Resorption nicht signifikant. (siehe Tab. 11)

Tabelle 9: Einfluß von 5 mmol/l L-Glutamin im Perfusat auf die L-Glutaminsäure-Resorption
Konzentration von L-Glutaminsäure : 0,2 mmol/l

	Gruppe HP			Gruppe HK		
	Mannit (Kontrolle)		L-Glutamin	Mannit (Kontrolle)		L-Glutamin
Anzahl der Versuche	8		8	8		8
Rattengewichte in g	330 ± 9		300 ± 4	310 ± 5		320 ± 6
perfundiertes Darmsegment in cm	17 ± 0,3		17 ± 0,3	15 ± 0,5		15 ± 0,3
Darmtrockengewicht in mg	399 ± 6		425 ± 10	328 ± 10		338 ± 24
Faktor	0,909 ± 0,007		0,884 ± 0,003	0,913 ± 0,001		0,907 ± 0,007
Konzentration in mmol/l	0,092 ± 0,007		0,125 ± 0,003	0,095 ± 0,003		0,134 ± 0,003
Resorption in µmol pro Darmsegment	1,271 ± 0,051	$p<0,05$	0,982 ± 0,072	1,289 ± 0,046	$p<0,05$	0,898 ± 0,250
Resorption in µmol/100 mg Darmtrockengewicht	0,318 ± 0,003	$p<0,01$	0,231 ± 0,007	0,392 ± 0,007	$p<0,01$	0,265 ± 0,006

Tabelle 10: Einfluß von 5 mmol/l L-Asparaginsäure im Perfusat auf die L-Glutaminsäure-Resorption
Fütterung: Altromin
Konzentration von L-Glutaminsäure: 0,2 mmol/l

	Mannit (Kontrolle)		L-Asparagin-säure
Anzahl der Versuche	10		10
Rattengewichte in g	359 ± 6		347 ± 5
perfundiertes Darm-segment in cm	20 ± 0,6		17 ± 0,8
Darmtrockengewicht in mg	360 ± 18		312 ± 22
Faktor	0,930 ± 0,012		0,941 ± 0,003
Konzentration in mmol/l	0,148 ± 0,006		0,179 ± 0,006
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,689 ± 0,085	$p<0,01$	0,358 ± 0,030
Resorption in µmol/ 100 mg Darmtrocken-gewicht	0,191 ± 0,015	$p<0,01$	0,115 ± 0,003

Tabelle 11: Einfluß von 5 mmol/l L-Leucin bzw. L-Alanin im Perfusat auf die L-Glutaminsäure-Resorption
Fütterung: Altromin
Konzentration von L-Glutaminsäure: 0,2 mmol/l

	Mannit (Kontrolle)		L-Leucin	L-Alanin
Anzahl der Versuche	6		8	8
Rattengewichte in g	301 ± 4,8		305 ± 5,3	323 ± 4,2
perfundiertes Darmsegment in cm	17 ± 0,8		18 ± 0,85	17 ± 0,95
Darmtrockengewicht im mg	290 ± 7		324 ± 10	280 ± 7
Faktor	0,971 ± 0,002		1,019 ± 0,001	0,967 ± 0,007
Konzentration in mmol/l	0,164 ± 0,002		0,167 ± 0,003	0,173 ± 0,001
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,445 ± 0,024	$p<0,05$	0,331 ± 0,038	0,381 ± 0,038
Resorption in µmol/100 mg Darmtrockengewicht	0,153 ± 0,010	$p<0,05$	0,102 ± 0,007	0,136 ± 0,015

RESORPTION VON L-ASPARAGINSÄURE

1. Resorption von L-Asparaginsäure aus dem proximalen, mittleren und distalen Jejunum bei HP- und HK-Ratten

(L-Asparaginsäure-Konzentration im Perfusat: 0,2 mmol/l)

Bei diesem Versuch wurden bei jeder Ratte gleichzeitig das proximale, mittlere und distale Jejunum perfundiert. Außerdem wurde noch untersucht, inwieweit sich Unterschiede in der Resorption von L-Asparaginsäure zwischen protein- (HP) bzw. kohlenhydratreich ernährten (HK) Ratten feststellen lassen.
Dabei zeigte sich, daß die Resorption von L-Asparaginsäure im proximalen Jejunum am niedrigsten und im distalen Jejunum am höchsten war. Dies war sowohl bei Gruppe HP, wie auch bei Gruppe HK festzustellen. Die Resorptionsunterschiede zwischen proximalem, mittlerem und distalem Jejunum waren jedoch nicht signifikant.
Ferner konnte festgestellt werden, daß die Ernährung mit der proteinreichen Diät gegenüber der kohlenhydratreichen Diät eine etwas höhere Resorption von L-Asparaginsäure zur Folge hatte. Dies war sowohl im proximalen, wie auch im mittleren und distalen Darmsegment der Fall. Aber auch hier waren die Unterschiede nicht signifikant.
In Tabelle 12 sind die Werte im einzelnen aufgeführt.

Tabelle 12: Resorption von L-Asparaginsäure bei HP- und HK-Ratten im proximalen, mittleren und distalen Jejunum
Konzentration von L-Asparaginsäure: 0,2 mmol/l

	Gruppe HP			Gruppe HK		
	proximales Jejunum	mittleres Jejunum	distales Jejunum	proximales Jejunum	mittleres Jejunum	distales Jejunum
Anzahl der Versuche	12	12	12	12	12	12
Rattengewichte in g	----------	307 ± 5 ----------		----------	310 ± 8 ----------	
perfundiertes Darmsegment in cm	20 ± 0,3	19 ± 0,7	19 ± 0,7	22 ± 1,1	18 ± 0,6	20 ± 1,2
Darmtrockengewicht in mg	293 ± 14	320 ± 14	264 ± 21	383 ± 23	296 ± 18	300 ± 21
Faktor	0,86 ± 0,17	0,90 ± 0,01	0,87 ± 0,02	0,86 ± 0,02	0,84 ± 0.02	0,93 ± 0,02
Konzentration in mmol/l	0,155 ± 0,011	0,130 ± 0,007	0,145 ± 0,016	0,146 ± 0,003	0,154 ± 0,007	0,127 ± 0,007
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,772 ± 0,082	0,960 ± 0,084	0,845 ± 0,128	0,857 ± 0,075	0,772 ± 0,066	0,897 ± 0,123
Resorption in µmol/100 mg Darmtrockengewicht	0,263 ± 0,035	0,299 ± 0,025	0,320 ± 0,068	0,222 ± 0,007	0,260 ± 0,030	0,291 ± 0,030

Unterschied zwischen proximalem und distalem Jejunum bei Gruppe HK signifikant ($p < 0,05$)

2. Resorption von L-Asparaginsäure aus dem proximalen, mittleren und distalen Jejunum bei HK- und HF-Ratten

(L-Asparaginsäure-Konzentration im Perfusat: 0,2 mmol/l

Bei diesem Versuch wurden hinsichtlich der Resorption in verschiedenen Dünndarmabschnitten im Prinzip gleiche Ergebnisse erzielt wie bei dem vorherigen. Auch hier erhöhte sich die Resorptionsrate von L-Asparaginsäure im Jejunum von proximal nach distal. Im distalen Jejunum war in diesem Versuch bei beiden Gruppen die Resorption von L-Asparaginsäure signifikant höher als im proximalen und mittleren Jejunum; bei Gruppe HF (fettreiche Ernährung) war auch noch die Resorptionsrate im mittleren Jejunum signifikant höher als im proximalen Jejunum (Tab. 13).

Ferner war bei Gruppe HK im Vergleich zu Gruppe HF sowohl im proximalen wie im distalen Darmsegment eine signifikant höhere Resorptionsrate von L-Asparaginsäure zu erkennen, während im mittleren Jejunum kein signifikanter Unterschied zu ermitteln war. Genaue Angaben befinden sich in Tabelle 13.

Tabelle 13: Resorption von L-Asparaginsäure bei HK- und HF-Ratten im proximalen, mittleren und distalen Jejunum
Konzentration von L-Asparaginsäure: 0,2 mmol/l

	Gruppe HP			Gruppe HF		
	proximales Jejunum	mittleres Jejunum	distales Jejunum	proximales Jejunum	mittleres Jejunum	distales Jejunum
Anzahl der Versuche	18	12	12	18	12	12
Rattengewichte in g	----------	327 ± 5	----------	----------	340 ± 7	----------
perfundiertes Darmsegment in cm	15 ± 0,5	12 ± 0,6	12 ± 0,6	18 ± 0,8	12 ± 0,7	12 ± 0,5
Darmtrockengewicht in mg	225 ± 5	227 ± 8	199 ± 11	341 ± 8	246 ± 11	236 ± 5
Faktor	0,915 ± 0,008	0,937 ± 0,005	0,953 ± 0,008	0,881 ± 0,005	0,940 ± 0,005	0,944 ± 0,002
Konzentration in mmol/l	0,146 ± 0,002	0,136 ± 0,001	0,085 ± 0,002	0,142 ± 0,005	0,129 ± 0,005	0,088 ± 0,005
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,731 ± 0,037	0,786 ± 0,017	1,319 ± 0,038	0,822 ± 0,069	0,870 ± 0,057	1,284 ± 0,211
Resorption in µmol/100 mg Darmtrockengewicht	0,324 ± 0,020	0,365 ± 0,020	p<0,01 0,661 ± 0,040	0,241 ± 0,017	p<0,02 0,342 ± 0,010	p<0,01 0,544 ± 0,034
		p < 0,01			p < 0,01	

Unterschied zwischen Gruppen HK und HF im proximalen und distalen Jejunum signifikant (p < 0,05)

RESORPTION VON L-GLUTAMINSÄURE BEI HK- UND HP-RATTEN NACH 12-STÜNDIGEM FUTTERENTZUG

L-Glutaminsäure-Konzentration des Perfusats: 0,2 mmol/l

Die Resorption von L-Glutaminsäure aus dem mittleren Jejunum wurde bei HP- und HK-Ratten auch nach 12-stündigem Futterentzug bestimmt. Dabei zeigte sich im Gegensatz zu den Versuchen ohne vorhergehenden Futterentzug (siehe Tab. 8) eine signifikant erhöhte Resorption von L-Glutaminsäure bei Gruppe HP gegenüber Gruppe HK. Der signifikante Unterschied in der Resorption von L-Glutaminsäure war dabei sowohl im gesamten perfundierten Darmsegment, wie auch bei der auf 100 mg Darmtrockengewicht bezogenen Resorptionsrate zu finden. Über die dazugehörigen Werte gibt Tabelle 14 Auskunft.

Tabelle 14: Resorption von L-Glutaminsäure bei HP- und HK-Ratten nach 12-stündigem Futterentzug
Konzentration von L-Glutaminsäure: 0,2 mmol/l
Resorptionsort: mittleres Jejunum

Gruppe	HP		HK
Anzahl der Versuche	6		6
Rattengewichte in g	270 ± 6		290 ± 7
perfundiertes Darmsegment in cm	15 ± 0,3		14 ± 0,4
Darmtrockengewicht in mg	180 ± 4		196 ± 4
Faktor	0,847 ± 0,006		0,862 ± 0,002
Konzentration in mmol/l	0,167 ± 0,002		0,178 ± 0,001
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,642 ± 0,020	$p < 0,05$	0,500 ± 0,020
Resorption in µmol/100mg Darmtrockengewicht	0,356 ± 0,004	$p < 0,01$	0,253 ± 0,002

VERSUCHE ZUR L-ASPARAGINSÄURE- UND L-GLUTAMINSÄURE-RESORPTION AM CAECUM UND COLON

1. Konzentration von L-Asparaginsäure: 0,2 mmol/l

Die Versuche wurden an mit Altromin gefütterten Ratten durchgeführt. Die Versuchsdurchführung erfolgte am Caecum und Colon ascendens in gleicher Weise wie am Jejunum. Die Auswertung der Ergebnisse zeigte zwar eine Resorption von L-Asparaginsäure, es bestand jedoch kein Unterschied zwischen Caecum und Colon (siehe Tab. 15).

2. Beeinflussung der L-Glutaminsäure-Resorption durch L-Glutamin

Ebenso wie bei den Versuchen am Jejunum wurde am Caecum der Einfluß von L-Glutamin auf die Resorption von L-Glutaminsäure untersucht.
Bei diesem Versuch am Caecum wurde die Resorption von L-Glutaminsäure nicht wie am Jejunum durch L-Glutamin verringert (siehe Tab. 16).

Tabelle 15: Resorption von L-Asparaginsäure im Caecum und im Colon
Konzentration von L-Asparaginsäure: 0,2 mmol/l

Resorptionsort	Colon	Caecum
Anzahl der Versuche	8	8
Rattengewicht in g	320 ± 7	340 ± 6
Darmtrockengewicht in mg	139 ± 8	274 ± 16
Faktor	1,031 ± 0,009	1,025 ± 0,015
Konzentration in mmol/l	0,177 ± 0,008	0,168 ± 0,057
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,155 ± 0,016	0,299 ± 0,073
Resorption in µmol/ 100 mg Darmtrocken-gewicht	0,111 ± 0,008	0,112 ± 0,016

Tabelle 16: Einfluß von 5 mmol/l L-Glutamin im Perfusat auf die L-Glutaminsäure-Resorption im Caecum
Konzentration von L-Glutaminsäure: 0,2 mmol/l

	Mannit (Kontrolle)	L-Glutamin
Anzahl der Versuche	6	6
Rattengewicht in g	315 ± 8	315 ± 8
Darmtrockengewicht in mg	374 ± 20	344 ± 4
Faktor	1,010 ± 0,008	1,019 ± 0,008
Konzentration in mmol/l	0,161 ± 0,009	0,163 ± 0,004
Resorption in µmol pro Darmsegment	0,431 ± 0,057	0,385 ± 0,069
Resorption in µmol/ 100 mg Darmtrocken-gewicht	0,115 ± 0,012	0,111 ± 0,016

PAPIERCHROMATOGRAPHISCHE BESTIMMUNG VON L-GLUTAMINSÄURE

Wie bereits im Abschnitt "Material und Methoden" beschrieben, wurde L-Glutaminsäure sowohl in der perfundierten wie nicht perfundierten Versuchslösung papierchromatographisch aufgetrennt, um anschließend im Flüssigszintillationszählerdie ^{3}H-Aktivität des in 1 cm breite Streifen geschnittenen Chromatogramms zu bestimmen. Dabei waren 80% der ^{3}H-Aktivität bei der nicht perfundierten Versuchslösung und 77% bei der perfundierten Versuchslösung in dem Bereich des Chromatogramms festzustellen, in dem auf Grund des Rf-Wertes die L-Glutaminsäure zu erwarten war. Das radioaktive Isotop ^{3}H blieb demzufolge während der Darmperfusion an die L-Glutaminsäure gebunden.

ENZYMATISCHE BESTIMMUNG VON L-GLUTAMINSÄURE

Die Bestimmung der L-Glutaminsäure nach einem Farbtest der Firma Boehringer Mannheim (siehe Material und Methoden) einerseits und nach der Berechnung auf Grund der ^{3}H-Aktivität in sechs perfundierten Versuchslösungen andererseits, ergab folgende Ergebnisse:

Bestimmung der L-Glutaminsäure-Konzentration nach dem Farbtest von Boehringer Mannheim	Berechnung der L-Glutaminsäure-Konzentration auf Grund der gefundenen ^{3}H-Aktivität
L-Glutaminsäure (mmol/l)	L-Glutaminsäure (mmol/l)
0,183	0,197
0,156	0,156
0,204	0,197
0,183	0,170
0,210	0,197
0,074	0,081

Die Übereinstimmung der gefundenen Werte kann als befriedigend angesehen werden. Die Berechnung der L-Glutaminsäure-Konzentration auf Grund der erhaltenen ^{3}H-Aktivität ist somit möglich.

D I S K U S S I O N

Bei Untersuchungen über die Auswirkungen verschiedener Diäten auf die Aminosäurenresorption wurde von einigen Autoren nachgewiesen, daß eine Adaptation des intestinalen Aminosäurentransports an eine proteinreiche Diät (=HP) erfolgt. Als Erklärung dafür wird eine Zunahme der Anzahl der Aminosäurencarrier in der Bürstensaummembran angenommen (Scharrer, 1972, Scharrer et al., 1982). Es ist bekannt, daß für saure Aminosäuren ein eigenes Transportsystem existiert (Schultz et al., 1970). Es stellte sich daher die Frage, ob es auch zu einer Adaptation des intestinalen Transports saurer Aminosäuren an eine Hochproteindiät kommt.
Wolffram (1983) konnte an isolierten Bürstensaummembranvesikeln zwar für die neutrale Aminosäure L-Leucin eine deutlich erhöhte Aufnahme bei proteinreich ernährten Tieren feststellen. Hingegen konnte er unter gleichen Versuchsbedingungen für L-Glutaminsäure nur bei Vorhandensein eines Na^+-Gradienten ($Na^+_{extravesikulär} > Na^+_{intravesikulär}$), nicht jedoch unter Na^+-Gleichgewichtsbedingungen eine stärkere Aufnahme bei der Gruppe HP ermitteln.

Aufgrund der eigenen in vivo-Versuche an perfundierten Darmsegmenten ergab sich zunächst hinsichtlich der Adaptation der intestinalen Resorption saurer Aminosäuren an eine proteinreiche Fütterung ein unklares Bild. Es ließ sich zwar eine leicht erhöhte Resorption von L-Glutaminsäure bei der Gruppe HP gegenüber der Gruppe HK nachweisen, der Unterschied war aber bei Ratten ohne Futterentzug recht gering und schlecht reproduzierbar. In der Tendenz gleiche Ergebnisse wurden auch bei den Resorptionsversuchen mit L-Asparaginsäure erhalten. Auch hier war die Differenz in der Resorption von L-Asparaginsäure zwischen der Gruppe HP und HK (zugunsten der Gruppe HP) nicht signifikant. Wurde jedoch den Ratten für 12 Stunden das Futter entzogen, dann stellte sich zumindest für die L-Glutaminsäureresorption der Sachverhalt anders dar. (Die Auswirkungen des Futterentzugs auf den intestinalen Transport von L-Asparaginsäure wurden nicht geprüft.) Unter diesen Voraussetzungen war sowohl die Resorptionsrate im gesamten perfundierten Darmabschnitt wie auch die auf 100 mg Darmtrockengewicht bezogene Resorptionsrate bei der Gruppe HP gegenüber der Gruppe HK signifikant erhöht.
Wie bereits im Abschnitt "Literatur" erwähnt, erfolgt die Resorption von sauren Aminosäuren z.T. durch einen Na^+-abhängigen aktiven Transportmechanismus mit einer hohen Substrataffinität und einer niedrigen Transportkapazität und z.T. durch einfache Diffusion (Lerner und

Steinke, 1976). Da also für die Resorption von sauren Aminosäuren ein eigenes durch eine niedrige Kapazität charakterisiertes Transportsystem existiert, besteht die Möglichkeit, daß zwar durch die Hochprotein-Diät eine Adaptation der betreffenden Carrier hervorgerufen wird, dies sich aber in den Versuchen ohne Futterentzug nicht zeigte, da das Transportsystem möglicherweise durch die über das proteinreiche Futter reichlich zugeführten Aminosäuren, trotz der Spülung der Darmsegmente, zum Teil bereits "besetzt" war. Es ist nämlich nicht auszuschließen, daß der Darm der ad libidum gefütterten Ratten nach der Durchspülung zwischen den Darmzotten noch geringe Futterreste und damit auch Aminosäuren enthielt, die die Resorption von L-Glutaminsäure aufgrund der reichlichen Protein- und damit Aminosäurenzufuhr über das Futter insbesondere bei den HP-Tieren hemmten . Ein weiterer Grund für die "fehlende Anpassung" der intestinalen Transportkapazität für saure Aminosäuren bei Ratten ohne Futterentzug könnte darin liegen, daß es bei HP-Tieren zu einer Rückdiffusion von Aminosäuren aus den Epithelzellen des Jejunums in das Darmlumen kommt, da ja in den intestinalen Epithelzellen infolge der Hochproteindiät eine relativ hohe Konzentration von Aminosäuren und damit auch von sauren Aminosäuren vorliegen dürfte. Auch diese zurückdiffundierten Aminosäuren könnten somit die Resorption der im Perfusat vorhandenen Aminosäuren bei der Gruppe HP stärker gehemmt haben als bei der Gruppe HK

und damit einen etwaigen Gruppenunterschied verwischt haben.
Die signifikant erhöhte Resorption von L-Glutaminsäure aus dem Dünndarmlumen bei der Gruppe HP gegenüber der Gruppe HK nach 12-stündigem Futterentzug könnte also damit erklärt werden, daß durch den Futterentzug das spezifische Transportsystem für saure Aminosäuren für die Resorption der L-Glutaminsäure voll zur Verfügung stand. Es deutet also viel darauf hin, daß eine Induktion des Carriers für saure Aminosäuren in der intestinalen Bürstensaummembran erfolgt.

Fettreiche (HF-) Ernährung führte in den Versuchen von Scharrer und Kelch (1974) bei Ratten im Vergleich zu kohlenhydratreicher Ernährung zu einer Beeinträchtigung des intestinalen L-Leucin-Transports. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen dies auch für den intestinalen L-Asparaginsäure-Transport. Eine HF-Diät reduzierte im Vergleich zu einer HK-Diät die intestinale Resorption von L-Asparaginsäure im proximalen und im distalen Jejunum signifikant. Als mögliche Erklärung für den hemmenden Effekt einer HF-Diät auf den intestinalen Transport von L-Asparaginsäure könnte eine Modifizierung der Lipid-Barriere in der Bürstensaummembran in Betracht gezogen werden. Insbesondere könnte die Fettsäurenzusammensetzung der Phospholipide der Bürstensaummembran durch die HF-Fütterung verändert worden sein.

Bei in vitro-Versuchen am isolierten Dünndarm von Kaninchen kamen Schultz et al. (1970) zu dem Ergebnis, daß die sauren Aminosäuren L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure sich beim Transport durch die Bürstensaummembran in das Epithel wechselseitig hemmen. Dies steht in Übereinstimmung mit den Resultaten unserer in vivo-Versuche. L-Asparaginsäure hemmte nämlich bei unseren Versuchen am perfundierten Darmsegment die L-Glutaminsäure-Resorption signifikant. Die starke gegenseitige Hemmung der sauren Aminosäuren beim intestinalen Transport könnte darin eine Erklärung finden, daß diese um das gleiche Transportsystem konkurrieren. Neuere Untersuchungen bestätigen diese Annahme. Über einen transstimulatorischen Effekt (=Gegentransport) bei der Aufnahme von L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure in Bürstensaummembranvesikel wird von Corcelli et al. (1982) berichtet. Dabei kommt es zu einer Stimulation in der Aufnahme von sauren Aminosäuren durch die Anwesenheit einer sauren Aminosäure in den Bürstensaummembranvesikeln. Dieser Befund wurde dahingehend interpretiert, daß L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure durch das gleiche Transportsystem in die Vesikel aufgenommen werden. Auch L-Glutamin und L-Leucin hemmten in der vorliegenden Arbeit die L-Glutaminsäure-Resorption, nicht aber L-Alanin. Da durch die Amidbildung die L-Glutaminsäure ihre saure Eigenschaft verliert, stellt sich die Frage, warum

der intestinale Transport der L-Glutaminsäure, der durch ein eigenes Transportsystem erfolgt (Schultz et al., 1970), in so starkem Umfang durch L-Glutamin gehemmt wird. Für diese Hemmung des Transports saurer Aminosäuren durch neutrale Aminosäuren werden in der Literatur als Gründe strukturelle Analogien (Lerner und Steincke, 1977) wie auch die Länge der Kohlenstoffkette (Corcelli et al., 1982) diskutiert. Dies könnte auch für L-Glutamin und L-Leucin zutreffen. So ist möglicherweise auch zu erklären, warum L-Alanin, das nur eine relativ kurze Kohlenstoffkette besitzt, den intestinalen Transport von L-Glutaminsäure nicht hemmte.

Der Mittelteil des Dünndarms weist die höchste Transportkapazität für neutrale Aminosäuren auf (Baker und George, 1971). Für saure Aminosäuren scheint dies nach unseren Untersuchungen nicht zuzutreffen. Es wurde sowohl bei der Gruppe HP, wie auch bei der Gruppe HK und HF das proximale, mittlere und distale Jejunum perfundiert. Im proximalen Jejunum wurde bei allen Gruppen die niedrigste Resorptionsrate für L-Asparaginsäure gefunden, im distalen Jejunum jedoch die höchste. Während die für die einzelnen Darmabschnitte erhaltenen Werte bei der Gruppe HP nicht signifikant verschieden waren trat bei den Gruppen HK und HF hinsichtlich der Resorption von L-Asparaginsäure zwischen dem proximalen und dem distalen Jejunum ein signifikanter Unterschied auf. Diese Befunde deuten darauf hin, daß die

Dichte der Carrier für saure Aminosäuren in der Membran der Darmepithelzelle vom proximalen zum distalen Dünndarm hin zunimmt.

Obwohl das Caecum und Colon normalerweise nicht an der Aminosäurenresorption beteiligt sind (Binder, 1970), berichten manche Autoren von einer Resorption einiger Aminosäuren aus diesem Darmabschnitt. So fanden Hoover und Heitmann (1975) am Caecum von Kaninchen eine geringe Alanin-Resorption, sowie James und Smith (1970) einen Na^+-abhängigen Transport am Colon von neugeborenen Ferkeln.
Bei eigenen Versuchen konnte am Caecum und Colon eine Resorption von L-Asparaginsäure festgestellt werden. Unterschiedliche Resorptionsraten traten jedoch zwischen den beiden Darmabschnitten nicht auf.
Im Gegensatz zu den Befunden am Jejunum war bei einem Resorptionshemmversuch am Caecum keine Beeinträchtigung des intestinalen L-Glutaminsäure-Transports durch L-Glutamin zu erkennen. Dies läßt darauf schließen, daß am Caecum nicht wie am Jejunum ein eigenes Transportsystem für saure Aminosäuren existiert, sondern daß der Resorption ein einfacher Diffusionsprozeß zugrunde liegt. Die Wahrscheinlichkeit, daß das Caecum und Colon aktiv an der Aminosäurenresorption beteiligt sind, ist auch deshalb gering, da aufgrund der hohen Resorptionsrate für Aminosäuren im Dünndarm nur eine geringe Menge Aminosäuren das Caecum und Colon erreichen dürfte.

Pinkus und Windmueller (1977) wiesen nach, daß die Aktivität der phosphat-abhängigen Glutaminase, die für die Metabolisierung von L-Glutaminsäure benötigt wird, im Dünndarm recht hoch ist, während im Caecum und Colon nur eine unbedeutende Aktivität dieses Enzyms festgestellt werden konnte. Da die Metabolisierung der sauren Aminosäuren im Dünndarm sich zur Resorption parallel verhält (Windmueller und Späth, 1977), läßt die fehlende Metabolisierung im Caecum und Colon zudem darauf schließen, daß diesen Darmabschnitten keine große Bedeutung im intestinalen Transport der sauren Aminosäuren zukommt.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Ziel dieser Arbeit war es, bei Ratten unter in vivo-Bedingungen an perfundierten Darmsegmenten die intestinale Resorption saurer Aminosäuren (L-Glutaminsäure und L-Asparaginsäure) zu untersuchen. Dabei wurde geprüft, welchen Einfluß eine Hochprotein-Diät (Gruppe HP), bzw. eine fettreiche Diät (Gruppe HF) im Vergleich zu einer kohlenhydratreichen Diät (Gruppe HK) auf die intestinale Resorption von sauren Aminosäuren hat. Die betreffenden Diäten wurden über mehrere Wochen verabreicht. Ferner wurde zudem der Einfluß anderer Aminosäuren auf die L-Glutaminsäure-Resorption ermittelt. Darüberhinaus wurde die Resorption von L-Asparaginsäure in verschiedenen Darmabschnitten untersucht. Folgende Befunde wurden erhoben:

1. Die intestinale Resorption von L-Glutaminsäure war bei Ratten, denen für 12 Stunden das Futter entzogen worden war, bei der Gruppe HP, verglichen mit der Gruppe HK, signifikant gesteigert. Ohne Futterentzug trat kein signifikanter Unterschied in der Resorption von sauren Aminosäuren zwischen diesen Gruppen auf.

2. Eine fettreiche Diät hatte im Vergleich zu einer kohlenhydratreichen Diät eine Abnahme der L-Asparaginsäure-Resorption im proximalen und distalen Jejunum zur Folge.

3. Die intestinale Resorption von L-Glutaminsäure wurde durch L-Asparaginsäure, L-Glutamin und L-Leucin signifikant gehemmt, während L-Alanin keinen Einfluß auf die Resorption von L-Glutaminsäure zeigte.

4. Das distale Jejunum wies bei den Gruppen HK und HF eine signifikant höhere Resorptionsrate von L-Asparaginsäure auf, als das proximale und mittlere.

5. Zwischen Caecum und Colon war kein Unterschied in der Resorption von L-Asparaginsäure zu erkennen. L-Glutamin hatte im Gegensatz zu den Befunden am Jejunum am Caecum keinen Einfluß auf die L-Glutaminsäure-Resorption.

Nach diesen Ergebnissen scheint die Resorption saurer Aminosäuren im Dünndarm durch die Ernährung beeinflußtzu werden. Des weiteren belegen die erhaltenen Resultate, daß das Transportsystem für saure Aminosäuren im Dünndarm auch eine Affinität zu bestimmten neutralen Aminosäuren hat.

S U M M A R Y

In vivo studies on intestinal absorption of acidic amino acids

The object of this studies was to investigate the intestinal absorption of acidic amino acids in perfused intestinal segments of rats under in vivo conditions. Thereby the influence of a high-protein diet (group HP) or a high-fat diet (group HF) as compared with a high-carbohydrate diet (group HK) on the intestinal absorption of acidic amino acids was studied. The respective diets were administered over a period of several weeks. Further, the influence of other amino acids on the absorption of L-glutamic acid was investigated. In addition, the absorption of L-aspartic acid in various intestinal sections was studied. The following results were obtained:

1. In the case of group HP as compared with group HK, the intestinal absorption of L-glutamic acid was significantly increased in rats, fasted for 12 hours. Without food deprivation there was no significant difference in the absorption of acidic amino acids in the two groups.

2. As compared with a high-carbohydrate diet, a high-fat diet resulted in a decrease in the L-aspartic acid absorption in the proximal and distal jejunum.

3. The intestinal absorption of L-glutamic acid was significantly inhibited by L-aspartic acid,

L-glutamine and L-leucine, while L-alanine showed no influence on the absorption of L-glutamic acid.

4. In the case of groups HK and HF, the distal jejunum showed a higher absorption rate of L-aspartic acid than the proximal and middle.

5. There was no recognisable difference in the absorption of L-aspartic acids between the cecum and the colon. In contrast to the results on the jejunum, the L-glutamine had no influence on the absorption of L-glutamic acid in the cecum.

According to these results the absorption of acidic amino acids in the small intestine appears to be influenced by the diet. Moreover, the results obtained prove that the transport system for acidic amino acids in the small intestine also has an affinity for certain neutral amino acids.

S C H R I F T T U M

ADIBI, S.A., and E.R. ALLEN, 1970

Impaired jejunal absorption rates of essential amino acids induced by either dietary caloric or protein deprivation in man.

Gastroenterology 59, 404-412

AHMED, S., and B.L. WALKER, 1972

In vitro accumulation of amino acids by intestinal strips from normal and essential fatty-acid-deficient rats.

Biochim. Biophys. Acta 255, 815-821

ALTMANN, G.G., and C.P. LEBLOND, 1970

Factors influencing villus size in the small intestine of adult rats as revealed by transposition of intestinal segments.

Am. J. Anat. 127, 15-36

BAKER, R.D., and M.J. GEORGE, 1971

Patterns of neutral amino acid uptake along rat small intstine.

Biochim. Biophys. Acta 225, 315-325

BINDER, H.J., 1970

Amino acid absorption in the mammalien colon.

Biochim. Biophys. Acta 219, 503-506

CLARK, R.M., 1975

Diet, mucosal architecture and epithelial cell production in the small intestine of specified-pathogen-free and conventional rats.

Lab. Anim. 9, 201-209

CORCELLI, A., PRECIOSO, G., PALMIERI, F. and C. TRORELLI, 1982

Electroneutral Na^+/dicarboxylic amino acid cotransport in rat intestinal brush border membrane vesicles.

Biochim. Biophys. Acta 689, 97-105

CORDERO, N., and T.H. WILSON, 1961

Comparison of transport capacity of small and large intestine.

Gastroenterology 41, 500-504

CURRAN, P.F., SCHULTZ, S.G., CHEZ, R.A., and R.E. FUISZ, 1976

Kinetic relations of the Na-amino acid interaction at the mucosal border of the intestine.

J. Gen. Physiol. 50, 1261-1286

DANIELS, V.G., DAWSON, A.G., NEWEY, H., and D.H. SMYTH, 1969

Effect of carbon chain length and amino group position on neutral amino acid transport systems in rat small intestine.

Biochim. Biophys. Acta 173, 575-577

FINCH, L.R., and F.J.R. HIRD, 1960

The uptake of amino acids by isolated segments of rat intestine. II. A survey of affinity for uptake from rates of uptake and competition for uptake.

Biochim. Biophys. Acta 43, 278-287

GIBSON, Q.H. and G. WISEMAN, 1951

Selective absorption of stereo-isomer of amino acids from loops of the small intestine of the rat.

Biochem. J. 48 426-429

HANSON, P.J., and D.S. PARSONS, 1977

Metabolism and transport of glutamine and glucose in vascularly perfused small intestine rat.

Biochem. J. 166, 509-519

HOOVER, W.H., and R.N. HEITMANN, 1975

Cecal nitrogen metabolism and amino acid absorption in the rabbit.

J. Nutr. 105, 245-252

JAMES, P.S., and M.W. SMITH, 1976

Methionine transport by pig colonic mucosa measured during early postnatal development.

J. Physiol. (Lond.) 262, 151-168

JUST, A., JORGENSEN, H., J.A., FERNANDEZ, 1981

The digestive capacity of the caecum-colon and the value of the nitrogen absorbed from the hind gut for protein synthesis in pigs.

Br. J. Nutr. 46, 209-219

KRAWIELITZKI, K., SCHADEREIT, R., VÖLKER, T., und H.D. BOCK, 1982

Untersuchungen über Resorption und Verwertung von ins Zäkum wachsender Schweine infundierten Aminosäuren.

Arch. Tierernährung 32, 445-454

LERNER, J., SATTELMEYER, P., and R. RUSH, 1975

Kinetics of methionine influx into various regions of chicken intestine.

Comp. Biochem. Physiol. 50A, 113-120

LERNER, J., and D.L. STEINKE, 1977

Intestinal absorption of glutamic acid in the chicken.

Comp. Biochem. Physiol. 57 A, 11-16

LIS, M.T., MATTHEWS, D.M., and R.F. CRAMPTON, 1972

Effects of dietary restrictions and protein deprivation on intestinal absorption of protein digestion products in the rat.

Br. J. Nutr. 28, 443-446

LUCAS, M.L., LEI, F.H., and J.A. BLAIR, 1980

The influence of buffer pH, glucose and sodium ion concentration on the acid microclimate in rat proximal jejunum in vitro.

J. Physiol.(Lond.) 385, 137-142

MATTHEWS, D.M., and G. WISEMAN, 1953

Transamination by the small intestine of the rat.

J. Physiol. (Lond.) 120, 55-63

MORTENSEN, A., and A. TINDALL, 1981

On caecal synthesis and absorption of amino acids and their importance for nitrogen recycling in willow ptarmigan (Lagopus lagopus lagopus).

Acta Physiol. Scand. 113, 465-469

MUNCK, B.G., 1972

Effects of sugar and amino acid transport on the transepithelial fluxes of sodium and chloride of short circuited rat jejunum.

J. Physiol. (Lond.) 223, 699-717

MUNCK, B.G., 1980

Lysine transport across the small intestine. Stimulation and inhibitory effects of neutral amino acids.

J. Membr. Biol. 53, 45-53

MUNCK, B.G., and S.G. SCHULTZ, 1969

Lysine transport across isolated rabbit ileum.

J. Gen. Physiol. 153, 157-182

MURER, H., and U. HOPFER, 1977

The functional polarity of the intestinal epithelial cell: studies with isolated plasma membrane vesicles.

In: Intestinal permeation (Eds.: M. Kramer and F. Lauterbach), 294-312, Excerpta Medica, Amsterdam

NEAME, K.D., and G. WISEMAN, 1957

The transamination of glutamic acid and aspartic acid during absorption by the small intestine of the dog in vivo.

J. Physiol. (Lond.) 135, 442-450

PARSONS, D.S., and H. VOLMAN-MITCHELL, 1974

The transamination of glutamate and aspartate during absorption in vitro by small intestine of chicken, guinea pig and rat.

J. Physiol. (Lond.) 239, 677-694

PINKUS, L.M., and H.G. WINDMUELLER, 1977

Phosphat-dependent glutaminase of small intestine: Localisation and role in in intestinal glutamine metabolism.

Arch. Biochem. Biophys. 182, 506-517

PRESTON, R.L., SCHAEFFER, J.S., and P.F. CURRAN, 1974

Structure-affinity relationships of substrates for the neutral amino acid transport system in the rabbit ileum.

J. Gen. Physiol. 64, 443-467

REISER, S., and P.A. CHRISTIANSEN, 1965

Intestinal transport of amino acids, studies with L-valine.

Am J. Physiol. 208, 914-921

REISER, S., and P.A. CHRISTIANSEN, 1969

Across-inhibition of basic amino acid transport by neutral amino acids.

Biochim. Biophys. Acta 183, 611-624

SCHARRER, E., 1972

Adaptation of intestinal amino acid transport.

Experientia 28, 267

SCHARRER, E. und J. BRÜGGEMANN, 1971

In vitro Studien zur Aminosäurenresorption. I. Untersuchungen an umgestülpten Dünndarmsäckchen unterschiedlich vorgefütterter Ratten.

Z. Tierphysiol. 27, 327-337

SCHARRER, E., und G. KELCH, 1974

Studies in vitro on amino acid absorption. 4. Effect of low carbohydrate feeding on active intestinal amino acid transfer.

Z. Tierphysiol. 33, 34-42

SCHARRER, E., WOLFFRAM, S., RAAB, W., AMANN, B., and N. AGNE, 1982

Adaptivechanges of amino acid and sugar transport across the brush border of rat jejunum.

In: Mechanism of Intestinal Adaptation (Eds.: J.W.L. Robinson, R.H. Dowling, and E.-O. Riecken), 123-139, MTP Press Limited Falcon House, Lancaster, England

SCHARRER, E., und H. ZUCKER, 1967

Untersuchungen über den Verzehrsrückgang bei proteinreicher Ernährung. III. Veränderungen der Aminosäurenresorptionsgeschwindigkeit durch Adaption an eiweißreiche Ernährung.

Z. Tierphysiol. 23, 269-180

SCHEDL, H.P., PIERCE, C.E., RIDER, A., and J.A. CLIFTON, 1978

Absorption of L-methionine from the human small intestine.

J. Clin. Invest. 47, 417-425

SCHEDL, H.P., BURSTON, D., TAYLOR, E., D.M. MATTHEWS, 1979

Kinetics of uptake of an amino acid and a dipeptide into hamster jejunum and ileum: the effect of semistarvation.

Clinical Science 56, 487-429

SCHLOTKE, B., und E. SCHARRER, 1974

In vitro-Studien zur Aminosäurenresorption. III. Der Zeitverlauf der durch proteinreiche Ernährung hervorgerufenen Adaptation des intestinalen Aminosäurentransports.

Z. Tierphysiol. 32, 335-343

SCHULTZ, S.G., 1977

Sodium-coupled solute transport by small intestine: a status report.

Am. J. Physiol. 233, E249-E254

SCHULTZ, S.G., and R.A. FRIZZEL, 1975

Amino acid transport by small intestine.

In: Intestinal Absorption and Malabsorption, edited by T.Z. Csaky, pp. 77-93. Raven Press, New York

SCHULTZ, S.G., YU-TU, L., ALVAREZ, O.O., and P.F. CURRAN, 1970

Dicarboxylic amino acid influx across brush-border of rabbit ileum.

J. Gen. Physiol. 56, 621-639

STEINER, M., FARRISH, G.C.M., and S.J. GRAY, 1969

Intestinal uptake of valine in caloric and protein deprivation.

Am. J. Clin. Nutr. 22, 871-877

WEBER, F.L., VEACH, G.L., and D.W. FRIEDMAN, 1981

Effects of insulin and glucagon on the uptake of amino acids from arterial blood by canine ileum.

Dig. Dis. 26, 113-118

WILSON, T.H., 1962

Intestinal absorption.

pp. 1-263. W.B. Saunders Co., London

WINDMUELLER, H.G., and A.E. SPAETH, 1974

Uptake and metabolism of plasma glutamine by the small intestine.

J. Biol. Chem. 249, 5070-5079

WINDMUELLER, H.G., and A.E. SPAETH, 1977

Vascular perfusion of rat small intestine: metabolic studies with isolated and in situ preparations.

Fed. Proc. 36, 177-181

WINDMUELLER, H.G., and A.E. SPAETH, 1980

Respiratory fuels and nitrogen metabolism in vivo in small intestine of fed rats.

J. Biol. Chem. 225, 107-112

WISEMAN, G.,1968

Absorption of amino acids.

In: Handbook of Physiology, edited by W. Heidel, sect. vol. 3, pp. 1277-1307. American Physiological Society, Washington, D.C.

WISEMAN, G.,1953

Absorption of amino acids using an in vitro technique.

J. Physiol. (Lond.) 120, 55-66

WOLFFRAM, S.,1983

Untersuchungen zur Adaptation des intestinalen Aminosäurentransports an isolierten Bürstensaummembranvesikeln.

med. vet. Dissertation, Universität München

WINNE, D., KOPF, S., and M.L. ULMER, 1979

Role of unstirred layer in intestinal absorption of phenylalanin in vivo.

Biochim. Biophys. Acta 550, 120-130

YASUMOTO, K., SUGIYAMA, K., and H. MITSUDA, 1977

Effects of semistarvation on the absorption of D-and L-amino acids and on the electrical potential across rat small intestine in vitro

Agric. Biol. Chem. 41, 1961-1968

ZIEMLANSKI, S., CIESLAKOWA, D., and M. PATASZEWSKA, 1970

Influence of protein-free diet on the digestion of proteins and absorption of amino acids in the gastrointestinaltract.

Bull. Acad. pol. Sci., Cl. II Ser. Sci. biol. 18, 649-656

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. E. Scharrer für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Ferner möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Isotopenlabors für Ihre Hilfsbereitschaft bedanken.

Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

L E B E N S L A U F

Name	Franz Hirl
20. Okt. 1951	geboren in Obertrennbach als Sohn des Landwirts Anton Hirl und der Hausfrau Amalie Hirl, geb. Grötzinger
Sept. 1957	Eintritt in die Volksschule Obertrennbach
Sept. 1962	Übertritt in das Kurfürst-Maximilian Gymnasium Burghausen
Mai 1972	Reifeprüfung am Gymnasium Pfarrkirchen
Mai 1973 - Sept. 1975	Studium an der Erziehungswissenschaftlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München
November 1976	Beginn des Studiums der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
5. Juli 1980	Eheschließung mit Cordula Koeppelle
Dezember 1981	Staatsexamen
April 1982 - Nov. 1982	Im Institut für Tierphysiologie tätig als wissenschaftliche Hilfskraft